تأثير الخلاصة المائية لنبات الأقحوان Calendula officinalis على الغدد اللبنية لعذارى الجرذان

بان طالب الحبوبي

الجامعة المستنصرية، كلية العلوم، قسم علوم الحياة.

الخلاصة

تم دراسة تاثير الخلاصة المائية لنبات الاقحوان Calendula officinalis على نمو وتطور الغدد اللبنية. أستخدمت لهذه الدراسة 12 جرذ نروجي أبيض، قسمت الى مجموعتين الاولى مجموعة السيطرة والتي تناولت ماء الشرب الأعتيادية والثانية مجموعة المعاملة بالمستخلص المائي لنبات الأقحوان ولمدة 14 يوم. بينت نتائج الدراسة ان الخلاصة المائية لنبات الأقحوان أدت الى زيادة عدد وحجم أسناخ الغدد اللبنية اذ كان معدل قطر الأسناخ للحيوانات المعاملة 36.22µm ملحوظ معنويا ($p<0.05$) مقارنة مع µm 20.11 لمجموعة السيطرة. اضافة الى زيادة معنوية ($p<0.05$) في عدد الأنوية للحيوانات المعاملة 17.1 مقارنة مع 10.1 في مجموعة السيطرة.كما سجل ارتفاعا معنويا ($p<0.05$) في مستوى هرمونات الأستراديول والبروجسترون والبرولاكتين في الحيونات المعاملة مقارنة مع مجموعة السيطرة كما أظهرت النتائج انخفاضا واضحا في مستقبلات الأستروجين والبروجسترون في الجرذان المعاملة (+) مقارنة مع مستقبلات الاستروجين والبروجسترون (+++) في مجموعة السيطرة.

المقدمة

الغدد اللبنية هي عبارة عن غدد جلدية محورة تتكون من مجموعة فصوص (Lobes) وكل فص يتكون من مجموعة فصيصات (Lobules) والفصيص يتكون من مجموعة أسناخ (Alveoli) مع القنوات المرتبطة بها،كما تحاط الاسناخ بطبقة من الانسجة الرابطة الحاوية على خلايا ظهارية عضلية (Myoepithelial Cell) متخصصة ومحورة لغرض التقلص(1)، وتعد الاسناخ التي تبطن بالخلايا الظهارية الفارزة للغدة اللبنية هي الأساس في أنتاج الحليب من قبل الغدة اللبنية (2).

لقد ورد أستخدام الكثير من النباتات في الطب الشعبي لكثير من شعوب وحضارات العالم القديم والحديث لما لهذه النباتات من تأثيرات واضحة على فعالية أعضاء الجسم والتي منها الغدد اللبنية لما تحتويه من مواد فعالة ومن هذه النباتات نبات الأقحوانCalendula officinalis وهو من عائلة Asteraceae (Compositae) وهي واسعة الانتشار في المناطق الدافئة في جنوب وجنوب شرق اسيا وأفريقيا ولقد صنف بأنه نبات عام 2008 لأهميته في الأستخدامات الطبية المختلفة (3). اذ اشارت الدراسات الى انه استخدم منذ القرن الثاني عشر من قبل المصريين والاغريق والهندوس والعرب (4) حيث اعتمد في علاج الحمى والتهاب اللثة والفم والبلعوم وعلاج البواسير كما أستخدم كمرهم لعلاج الحروق والجروح وتسكين ألم الجلد المصاب أضافة الى ذلك أستخدم في تحفيز الحيض لدى النساء (6,5). من الدراسات المتاحة لم نحصل على اي مصدر او دراسة لتأثير الخلاصة المائية لنبات الأقحوان على الغدد اللبنية وهذا يشير الى شحة الدراسات في هذا المجال ومن هنا جاءت فكرة دراسة تأثير الخلاصة المائية لنبات الأقحوان على الغدد اللبنية للجرذان.

طرائق العمل

أجريت التجربة على عذارى 12 جرذ نرويجي أبيض (sprouge-Dawley) بالغة بعمر ثلاثة أشهر وبأوزان تراوحت بين (140-180)غم، وقسمت الحيوانات الى مجموعتين متساويتين كما يلي:

الأولى مجموعة السيطرة Control Group:

أستمرت حيوانات هذه المجموعة بتناول ماء الشرب الأعتيادي بصورة حرة طيلة فترة التجربة.

الثانية مجموعة المعاملة Treatment Group

تم تجريع الحيوانات يوميا ولمدة 14 يوم بالخلاصة المائية لنبات الأقحوان وبتركيز 250 مايكروغرام/ مل عن طريق الأنبوب الفموي المعدي الذي يبلغ طوله 5، 5 سم وعرضه 1.3 سم. وفي اليوم الخامس عشرأخذت عينات الدم من كل جرذ عن طريق وخزالقلب لغرض دراستها هرمونيا Hormonal assay (7). بعدها تم تخدير الحيوانات وأستئصال غددها اللبنية بعد أزالة الشعر المحيط بالحلمات(8)، وتثبت النماذج فورا في محاليل التثبيت (فورمالين 10%) لغرض دراستها نسيجيا Histological (9) ودراسة الكيمائية النسيجية المناعية Immuno-histochemecal (10).

التحليل الإحصائي باستخدام تحليل التباين الأحادي (one analysis of variance) وعند وجود الاختلافات المعنوية وعالية المعنوية تجري المقارنات باستخدام اختبار T (T- test)(11).

النتائج والمناقشة

وضحت النتائج المتحققة من هذه التجربة بان للخلاصة المائية لنبات الأقحوان تاثيرات واضحة على الغدد اللبنية لعذارى الجرذان البيضاء مما أنعكس بشكل ملحوظ على فعاليتها والتي أشتملت ما يلي:

1- تميزت الحيوانات المستخدمة في هذه الدراسة بنشاطها وحيويتها ولم تظهرعليها أي أنحرافات في معدل أوزانها (جدول-1).

جدول (1)

التغيرات الحاصلة في أوزان الحيوانات قبل وبعد المعاملة

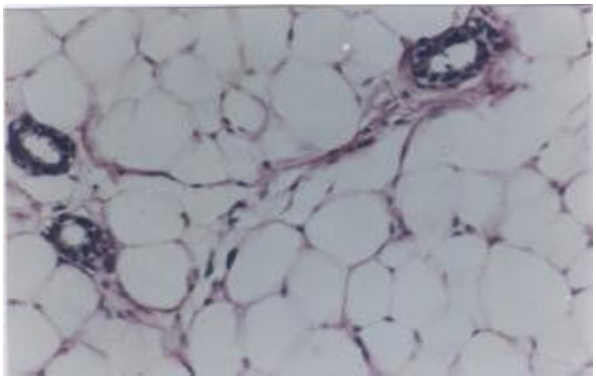
مجموعة المعاملة (mean±SD)	مجموعة السيطرة (mean±SD)
189±1.3	144±1.42 (gm) الوزن قبل المعاملة
196±1.0	162±1.24 (gm) الوزن بعد المعاملة

2- الدراسة النسيجية Histological Study

هنالك جملة من التغيرات النسيجية التي ترافق المعاملة بالخلاصة المائية لنبات الاقحوان والتي تعتمد على تغييرات في الفصوص والفصيصات والأسناخ مع القنوات المرتبطة بها مما يجعل الأستدلال على مقدار تأثيرالخلاصة على الغدة اللبنية ممكنا من خلال طبيعة هذه التغيرات النسيجية وكالاتي:

مجموعة السيطرة

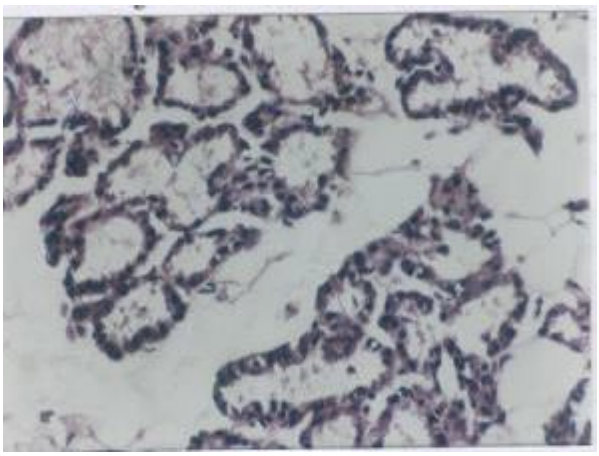
أظهرت المقاطع النسيجية المصبوغة بصبغة الهيموتوكسلين والأيوسين وجود فصيصات صغيرة منتشرة بين كمية كبيرة من النسيج الدهني(شكل -1).



شكل (1): صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء غير معاملة (سيطرة) تظهر وجود فصيصات صغيرة منتشرة بين كمية كبيرة من النسيج الدهني (H&E) (200X).

مجموعة المعاملة

أظهرت الشرائح النسيجية مراحل متقدمة من النمو والتطور لأنسجتها متمثلة بكبرالفصيصات والأسناخ وأحتوائها على مواد أفرازية كثيرة أكثر من مجموعة السيطرة (شكل-2).



شكل(2): صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة بالخلاصة المائية لنبات الأقحوان يظهر فيها توسع كبير للأسناخ وأحتوائها على مواد أفرازية كثيرة (H&E)(200X).

من النتائج السابقة يتضح أن نبات الأقحوان حفز نمو وتطور الغدد اللبنية لعذارى الجرذان وذلك لأن الخلاصة المائية لنبات الأقحوان لها تأثيرات شبيهة بفعالية الأستروجين والبروجسترون (12) اذ يحفز الأستروجين بصورة مباشرة تكوين القنوات الأفرازية بأضافة الى التكاثر الخلوي لظهارة القنوات اللبنية الحاوية على المستقبلات ومن ناحية أخرى بينت الدراسات الحديثة داخل وخارج الجسم الى أن البروجسترون ضروري للنمو الفصيص السنخي (13).

أما هرمون الحليب (prolactin) فأنه ينظم بصورة غير مباشرة التفرع القنوي الجانبي أثناء فترة البلوغ ويسيطر بصورة مباشرة على نمو الفصيص السنخي (Lobuloalveolar) وتكوين الحليب (Lactogenesis) أثناء فترة الحمل والرضاعة (14). كما أن التمايز الكامل للغدد اللبنية يتطلب بالأضافة الى الاستروجين والبروجسترون فعلا أضافيا لهرمون الحليب والأنسولين بالأضافة الى بيتيدات النمو وعوامل المصل الغير متمايزة في المرحلة النهائية لنمو الغدة اللبنية حيث يقوم هرمون البرولاكتين بتنظيم النمو الفصيصي السنخي (15).

3- القياسات النسيجية Morphometry :

3-1: أقطار اسناخ الغدد اللبنية (مايكرومتر µm):

لقد أوضحت النتائج زيادة معنوية (P<0.05) في أقطار أسناخ الغدد اللبنية في الحيوانات المعاملة مقارنة لمجموعة السيطرة (جدول -2).

3-2 : أقطار الأنوية في المقطع السنخي الواحد (نواة/ مقطع سنخي):

أمتد تأثير المعاملة ليشمل زيادة اعداد الأنوية في المقطع السنخي الواحد في المجموعة المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة (جدول-2).

جدول (2)

مقياس أقطار الأسناخ (µm) وعدد أنوية المقطع السنخي الواحد.

معدل عدد الانوية للمقطع السنخي الواحد	معدل قياس أقطارالأسناخ (مايكرومتر)
10.1±1.52 مجموعة السيطرة	20.11±2.03 مجموعة السيطرة
17.1±1.42 مجموعة المعاملة	*36.22±1.2 مجموعة المعاملة

*** P<0.05**

لوحظ الزيادة الحاصلة في القياسات النسيجية المتمثلة بكبر انويتها وكبر الاسناخ التي حصلت نتيجة زيادة العوامل المحفزة على النمو (16,12). وهذه النتائج جاءت متفقة مع دراسات سابقة على نباتات مختلفة اخرى (18,17).

4- الدراسة الهرمونية Hormonal Assay

لقد أرتفع مستوى الهرمونات الثلاث (الاستراديول، البروجسترون، البرولاكتين) أرتفاعا معنويا (P<0.05) والمقاسة بطريقة الأشعاع المناعي (Radio Immuno Assay) (RIA).

أ- الأستراديول : Estradiol

أدت الخلاصة المائية لنبات الاقحوان الى حصول أرتفاعا معنويا(P<0.05) في مستوى هرمون الأستراديول بالنسبة للحيوانات المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة (جدول-3).

ب- البروجستيرون: Progesterone

شمل تأثير المعاملة بالخلاصة المائية لنبات الأقحوان ارتفاعا معنويا(P<0.05) في مستوى هرمون البروجسترون مقارنة بمجموعة السيطرة (جدول-3).

ج- البرولاكتين: Prolactin

لقد تحقق ارتفاعا معنويا(P<0.05) في مستوى هرمون البرولاكتين في المجموعة المعاملة مقارنة بمجموعة السيطرة (جدول- 3).

جدول (3)

مستوى هرمونات الأستراديول والبروجيسترون والبرولاكتين في مصل حيوانات السيطرة والمعاملة.

	مجموعة السيطرة (mean±SD)	مجموعة المعاملة (mean±SD)
Estradiol (ng/ml)	70.1±0.2	*78.6±3.6
Progesterone (ng/ml)	6.1±20	*8.2±0.8
Prolactin (ng/ml)	3.5±2.1	*8.4±0.3

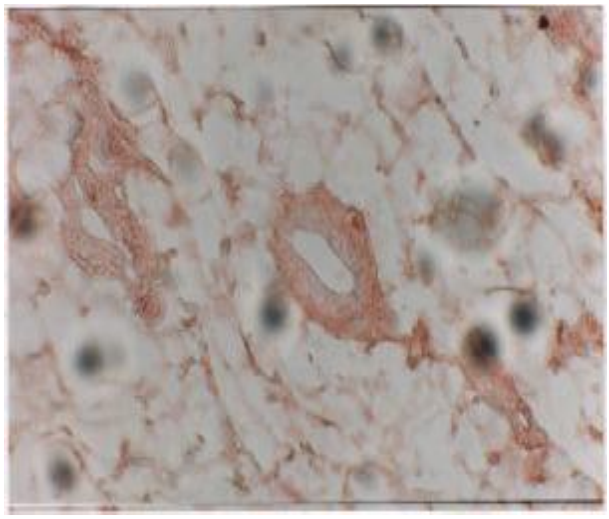
***(p<0.05)**

تظهر نتائج الدراسة الهرمونية ان الخلاصة المائية لنبات الأقحوان تعمل على حث النمو الفعال للغدد اللبنية كمدرر للحليب حيث أن الأستراديول من الهرمونات المهمة في نمو القنوات الناقلة من الأسناخ خلال فترة البلوغ وكذلك النمو الفصيصي السنخي خلال الحمل (19) وفي المراحل المتأخرة من نمو الغدة اللبنية أي لايؤثر على الرضاعة (20). اما هرمون البروجسترون فهو ضروري لنمو الغدة اللبنية حيث يساعد على تنامي النظام الفصيصي السنخي ولكنه لايؤثر على النمو القنوي (13) في الوقت الذي يعتبر فيه هرمون البرولاكتين ضروري لنمو الغدة اللبنية في المراحل المتاخرة من نمو الاسناخ وتهيأتها للرضاعة وينظم بصورة مباشرة النمو الفصيصي السنخي (21) وهو احد الهرمونات المسؤولة عن تصنيع الحليب (البروتين، اللاكتوز والدهون) (22).

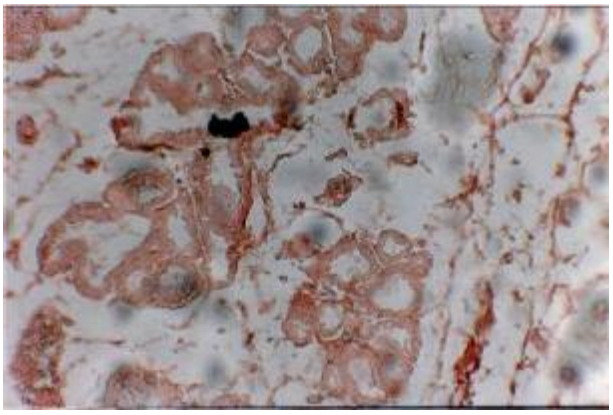
5- الدراسة الكيميائية النسيجية المناعية Immuno-histochemical study:

مستقبلات الأستروجين والبروجستيرون (PR&ER) Progesterone & Estrogen Receptors

أظهر نسيج الغدة اللبنية لحيوانات السيطرة تغيرا قويا (+++) لكل من مستقبلات الأستروجين والبروجستيرون (الصبغة النووية البنية)(شكل-3) في حين أظهر نسيج الغدة اللبنية للحيوانات المعاملة كثافة ضعيفة (+) في تغيير PR&ER (شكل-4).



شكل (3): صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء غير معاملة (سيطرة) يظهر تعبيرا قويا (+++) لمستقبلات ER (الصبغة داخل النواة) ومستقبلات PR (الصبغة داخل السايتوبلازم)(200X).



شكل(4): صورة لمقطع نسيجي للغدة اللبنية لأنثى جرذ عذراء معاملة بالخلاصة المائية لنبات الأقحوان يظهر فيها تعبيرا" ضعيفا(+) لمستقبلات (PR, ER)(200X).

من النتائج اعلاه نجد ان للخلاصة المائية لنبات الاقحوان تاثير محفز لنمو وتطور الغدة اللبنية حيث وجد Shyamala،1997 (23) أن الخلايا الموجبة ل PR كبيرة مع نواة صغيرة دائرية تمثل خلايا نسلية ظهارية لبنية غير متمايزة،أما الخلايا السالبة ل PR تكون صغيرة الحجم ذات نواة غير منتظمة وكروماتين متراص تمثل خلايا متمايزة.

الاستنتاجات

نستنتج من هذه الدراسة ان الخلاصة المائية لنبات الأقحوان لها تأثيرات استروجينية واضحة على الغدد اللبنية لعذارى الجرذان لذا انصح بأختبار هذه الفعالية على حيوانات مختبرية اخرى.

References

[1] Anderea s, k.F. Engineering Immunity in the mammary gland.J. of mammary Gland and Neoplasia, vol.2:2, 2002, pp.40-47.

[2] Wright, A.L.; Stern, D.A.and Halonen, M. The association of allergic sensitization in mother and child in breast and formula – fed in fonts. Bioactive components of Human milk, vol.50, No.1, 2001, pp.249-255.

[3] Rahman, A.H; Alam, M.S; Khan Ferdous, M.M.; Ahmed, S.K.; Rafial Islam, A.K.M. and Matiur Rahman, M.Toxonomic Studies on the family Asteraceae (compositae) of the Rajshahi Division. Research Journal of Agriculture and Biological Sci.Vol. 4, No.2, 2008, pp.134-140.

[4] Grieve, M,.A modern herbal :The medicinal, Culinary, Cosmetic and Economic properties, cultivation and Folklore of Herbs. Grasses, Fungi, Shrubs and Trees with all their modern scientific uses. Jonathan Cape Limited, London, 1931, pp.80-82.

[5] Mills, Sy,.The Essential Book of herbal Medicine. Penguin Book Ltd.Harmonds worth, Middlesex, 1991, pp.117-119.

[6] Chevallier, A,. Encyclopedia of Medicial Plant. Dorling Kindersley Pty Limited, St. Leonards, New South Wates, 1996, pp.150-153.

[7] Buster, J.E. and change, R.J. Inter relationship of circulating material steroid concentration in third trimester pregnancies II c-25 steroid : progesteroue, 16 ∝ hydroxyl-progesterone, 20 ∝ dihydroxy – progesterone, 5 progesterone, 5 pregnenolone sulphate and 17 ∝ hydroxyl, pregnelone. J.Clin.Endocr.Vol. 48, No.123, 1979.

[8] AL-Khalisi, H.H. The effect of fenugreek seeds on the mammary gland.A Histological and Histological APPROACH PH.D thesis, college of medicine. University of Baghdad. 2002.

[9] Bancrort, J.D.and Stevens, A. Theory and practice Physiological techniques. 2nd ed., 1982, pp.32.

[10] Shi, S.R.: Key, M. E. and Kalra, K.L.Antigen retrieval in formalin fixed, paraffin embedded tissues: an enhancement wetted for immune-hustochical stains based on microwave oven heating of tissue section.J.Histochem.Cytochem.Vol.394, No.6, 1991, pp.741-748.

[11] Daniel, W.W.Hypothesis testing In.Biostatistics, A.Foundation for analysis in the Health Sciences London, 1987, pp.161-205.

[12] Banaszkiewicz, W.; Mrozikiewicz, A,. Determination of the estrogenic activity of Calendula officinalis flower in biological units. Poznan Towarz Przyjaciol Nauk.2nd ed., 1962, pp.35-40.

[13] Granner, D.kHormones of the gonads.In: Harpers Biochemistry, 2000, pp.534-549.

[14] Naylor, M.J.; Jason, A.L.; Nel son, D.H.; Christopher, J. OProlactin regulates mammary epithelial cell proliferation via Anticrime/ peregrine mechanism. End. Vol. 20, No, 1, 2003, pp. 111-114.

[15] Ganong, F.W. The female reproductive system. In: Review of medicalphysiology. Ganonag, F.W. (Ed.). 17thed., prentice. Hall International. INC, USA, 1995, pp. 379-417.

[16] Naylor, M.J.; Jason, A.L.; Nel son, D.H.; Christopher, J.O,.Prolactin regulates mammary epithelial cell proliferation via Anticrime/ peregrine mechanism: Guide for health–care professionals. The pharmacy cortical press London, 2003, pp.49-70.

[17] AL-Khateeb, H. M. D. Some Morphological and Histochemical studies on Rats Mammary Gland PhD Thesis, college of Medicine. University of Baghdad, 1996.

[18] الساعدي، جبار عباس تأثير خلاصة ثمار الينسون على نمو وتطور الغدد اللبنية في الجرذان، أطروحة دكتوراه/ كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد(1997).

[19] Barlow, J. Cassey, T.; Chiu, J.F.; Plaut, k. Estrogen affects development of alveolar structures in whole–organ culture of mouse mammary glands. Brioche. Biopsy. Res Commun. Vol.232, No.2, 1997, pp.340-344.

[20] Swanson, S.M.and christor, k. Estradiol and progesterone can preventable mammary cancer when administered concomitantly with carcinogen but do not modify surviving tumor histology. Estrogen receptor alpha status of harass mutation frequency. 2003.

[21] Ormandy, C. J. Naylor, M, Harris, J. Robertson, F.; Horseman, N. D.; Lindeman, J. H; Visvader, J.; Kelly, P.A. Investigation of the transcription changes underlying functional defect in the mammary glands of prolactin receptor knockout mice. Endo. J. mammary Gland Neoplasisa, Vol.2, 2003, pp.297-323.

[22] Wright, A. L.; STERN, D.A.; Halonen, M. The association of allergic sensitization in mother and chide in Breast and formula –fed in fonts. Bioactive components of Human milk, Vol.501, 2001, pp.249-255.

[23] Shyamala, G. Role of estrogen protester on in normal mammary gland development. Trends Endocrine metal, Vol.8, 1997, pp.34-39.
[24] Frasor, J. PRL-induced ERP gene expression in mediated by Janus kinas 2(Jak2) while signal transducer and activator of transcription 5b (stat 5b) phosphorylation involves Jake 2 and a second tyrosine kinas. mol. Endo.Vol.15, 2001, pp.1941-1952.
[25] Sojl; S.; Jensen, E.V; N, Nilsson, S; yland, T.; Warner, M.; Gustafsson, T.A Estrogen receptor&Bin rodent mammary glad.Pans, Vol. 96, No. 1, 1999, pp.337-342.
[26] Telleria, C. M. Differential expression of the estrogen receptors ∝ & β in the rat corpus luteum of pregnancy: regulation by probating & Placental lactogens. Endo., Vol.139, 1998, pp.2432-2442.

Abstract

The effect of aqueous extract of Calendula officinalis on the growth and development of mammary glands was studied. 12 albino rats were used in this study, divided into two groups, the control group was given tap water and the other group received the extract orally for 14 days. The result revealed that the aqueous extract affect the number and size of the alveoli of the mammary glands compared to control. The mean alveoli diameter of treated animal was significant 36.22 μm compared to 20.11 μm of control $p<0.05$. In addition the mean of nuclei was 17.1 in treated animals compared to 10.1 in the control, significant increase $p<0.05$ in levels of estradiol, progesterone and prolactin hormones in treated animals compared to control. Estrogen and progesterone receptors expression revealed equalitive decrease in treated animals compared to control, when the estrogen and progesterone receptor expression among the control virgin rats were highly expression (+++), it decreased in expression (+) in treated animals.